

**SVEU ILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET**  
**BIOLOŠKI ODSJEK**

**TOČKASTE MUTACIJE I BOLESTI**

**POINT MUTATIONS AND DISEASES**

**SEMINARSKI RAD**

Adriana Bobinec  
Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)  
Mentor: prof.dr.sc. Mirjana Pavlica

Zagreb, 2010.

## SADRŽAJ:

1. Uvod.....	3
2. Podjela mutacija.....	5
3. To kaste mutacije.....	6
3.1 Tihe mutacije ili „samesense” (istosmislene) mutacije.....	8
3.2 Pogrešne ili „missense” mutacije.....	9
3.3 Besmislene ili „nonsense” mutacije.....	9
3.4 Pomak okvira čitanja ili „frame-shift” mutacije.....	10
4. Bolest uzrokovana to kustom mutacijom - srpasta anemija.....	11
4.1. Genetika bolesti srpastih stanica.....	12
4.2. Patofiziologija bolesti srpastih stanica.....	12
5. Mitohondrijska DNA i bolesti.....	14
5.1 Leberova nasljedna optička neuropatija.....	17
5.2 MELAS sindrom.....	18
5.2.1 Genetika i patofiziologija MELAS sindroma.....	19
6. Detekcija to kastih mutacija.....	20
7. Zaključak.....	21
8. Literatura .....	23
9. Sažetak.....	25
9. Summary.....	26

# 1. Uvod

Mutacije su trajne promjene u geneti kom materijalu stanice (DNA ili RNA molekuli) koje, ukoliko su se dogodile u spolnim stanicama, postaju nasljedne i prenose se na potomstvo. Uzroci mutacija su mnogobrojni: nastaju spontano u DNA tijekom replikacije kada se parovi baza pogrešno spare, ili kada nasumi no nastanu spontane lezije unutar DNA molekule. Osim spontanih mutacija, postoje i inducirane mutacije. Stopa takvih mutacija pove a se pod utjecajem vanjskih faktora poput zra enja ili djelovanja nekih mutagenih kemijskih tvari ili virusa (<http://en.wikipedia.org/wiki/Mutations>).

U ve ini se slu ajeva, greške u replikaciji DNA, odmah ispravljaju zahvaljuju i stani nom mehanizmu DNA popravka bez kojeg organizam koji je pretrpio mutaciju na nekom od esencijalnih gena ne bi preživio. Osim brojnih mehanizama popravka krivo sparenih baza u stanici i sama gra a DNA kao dvostruke zavojnice te komplementarnost me u parovima baza (A se uvijek sparuje s T, a C se uvijek sparuje s G) omogu uju visoku vjernost replikacije. Ukoliko je došlo do pogreške prilikom sparivanja, krivo sparene baze se izrežu uz pomo enzima i ponovno nadomjeste pravilnim bazama uz pomo komplementarnog lanca DNA koji služi kao kalup. Prosje na stopa mutacija iznosi  $10^{-6}$  do  $10^{-10}$  po jednom replikacijskom ciklusu. Odre ena mjesta u DNA zavojnici nazivaju se "vru im mjestima" za mutacije i odlikuju se ve om stopom mutacija od prosje ne. U tim regijama je DNA osjetljivija na ošte enja nego u ostalim regijama ili su odre ene sekvence DNA poput CpG sekvenci podložnije spontanim mutacijama. Citozin je esto metiliran te postoji u obliku 5-metilcitozina i zato lako deaminacijom prije e u timin koji prirodno postoji u molekuli DNA i DNA sustav za popravak krivo sparenih baza ne e ga prepoznati kao grešku (<http://www.dodaj.rs/f/2H/jE/2oJI0WBo/05-mutabilnost-i-reparac.pdf>).

Ponekad stani ni sustav koji radi korekciju krivo sparenih baza u DNA ne ispravi sve greške i do e do trajne promjene u DNA sekvenci koju onda nazivamo mutacijom (Alberts i sur. 1994.). Osobito je važno da se stopa mutacija u spolnim stanicama održava niskom kako se mutacije ne bi prenosile na potomstvo i kako bi se o uvale karakteristike vrste. U somatskim pak stanicama, mutacije mogu uzrokovati proliferaciju odre enih stanica koje preživljavaju na ra un drugih stanica i stvaraju tumore. Ve ina mutacija koje su smrtonosne za organizam eliminiraju se putem prirodne selekcije (Alberts i sur. 1994.) te se letalna ošte enja u DNA

molekuli ne smatraju pravim mutacijama jer uzrokuju smrt stanice. To posebice vrijedi za bakterije kod kojih letalne mutacije uzrokuju smrt organizma i stoga mutacija ne može biti prenesena na potomke.

Iako je za preživljavanje organizma geneti ka stabilnost jedan od glavnih preduvjeta, dugoro no gledaju i, za preživljavanje vrsta i populacija, ve a stopa mutacija može biti korisna jer donosi geneti ku varijabilnost koja u promjenjenim životnim uvjetima može biti od velike koristi. Mutacije stoga ubrzavaju evoluciju samih organizama jer su zahvaljuju i promjenama u DNA oni bolje adaptirani na okoliš i imaju ve u šansu za preživljavanje (Alberts i sur. 1994.).

Mutacije mogu imati razli ite uinke na organizam ovisno o tome koji dio genoma zahva aju te jesu li zahvatile kodiraju u ili nekodiraju u regiju DNA što je zna ajno kod eukariotskih organizama.

Mutacije se koriste i kao vrlo prakti no oru e u otkrivanju funkcije gena u molekularnoj biologiji, posebice na prokariotskim organizmima kod kojih je generacijsko vrijeme kratko i jednostavni su uvjeti uzgoja. Prou avanjem fenotipa mutanata za razli ite lokuse na razli itim genima dolazi se do zaklju aka o funkciji gena (Snyder i Champness, 2007.).

Mutacije imaju važnu ulogu i u razumijevanju evolucije, posebice makromolekula koje su važne za razvoj odvedenijih karakteristika me u živim bi ima. Naime, utvr eno je kako je za svaku promatranu evolucijsku liniju evolucijska stopa konstantna. To zna i da je broj mutacija kroz odre eno vrijeme za pojedinu molekulu relativno stalan te se stoga može odrediti starost pojedinih makromolekula i trenutak njihove divergencije od zajedni kog pretka (Stearns i Hoekstra, 2005.).

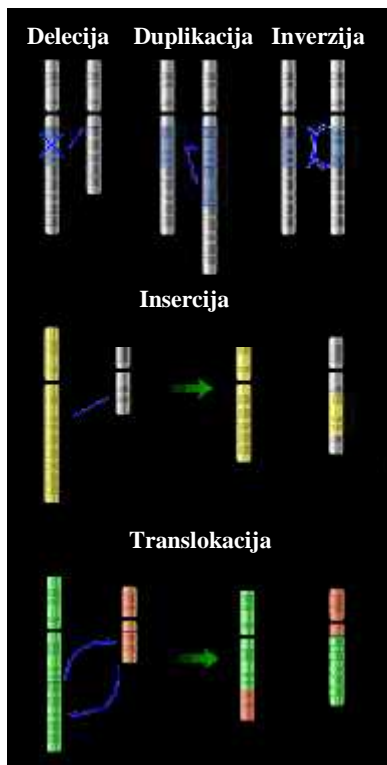
To kaste mutacije su mutacije supstitucije jednog nukleotida drugim u sekvenci DNA i mogu bitno utjecati na sintezu proteina odnosno njegovu funkcionalnost. Danas je poznato da mutacije uzrokuju oko 6 000 bolesti kod ljudi, a polimorfizmi u DNA stvaraju predispozicije za još tisu e drugih bolesti. Geneti ki utjecaj može biti jedini potreban faktor za ispoljavanje bolesti- tada govorimo o monogenским bolestima koje su uzrokovane mutacijom u jednom genu. U drugom slu aju su za bolest odgovorni kako geneti ki faktori tako i faktori okoline. Me u naj eš e bolesti uzrokovane to kastim mutacijama ubrajaju se cisti na fibroza, hemofilije te razli ite neuromiši ne bolesti (<http://www.dodaj.rs/f/2H/jE/2oJI0WBo/05-mutabilnost-i-reparac.pdf>).

## 2. Podjela mutacija

Mutacije se mogu podijeliti prema veličini segmenta DNA koji zahvaćaju, prema njihovom utjecaju na strukturu i funkciju gena, te na fitness organizma. Podjela mutacija može se raditi i prema faktorima koji ih uzrokuju tj. mutacije mogu nastati spontano ili mogu biti inducirane pomoću nekih vanjskih mutagena. S obzirom na to koliki je njihov utjecaj na strukturu DNA molekule i koliko su parova baza zahvatile, možemo ih podijeliti na makrolezije i mikrolezije.

U makrolezije ubrajamo sve mutacije koje uzrokuju velike kromosomske rearanžmane poput delecija, inverzija, duplikacija, insercija i translokacija. Takve mutacije mogu zahvatiti nekoliko gena pa i cijele kromosome (Slika 1).

Mikrolezije su mutacije koje zahvaćaju manje dijelove DNA. Nastaju supstitucijom (zamjenom) jednog nukleotida drugim (točaste mutacije) te insercijom ili delecijom jednog ili više nukleotida u genu. Takve mutacije su "frame-shift" mutacije jer uzrokuju promjene u okviru čitanja gena, mogu izazvati preuranjenu terminaciju sinteze polipeptidnog lanca ili producirati inaktivne proteine.

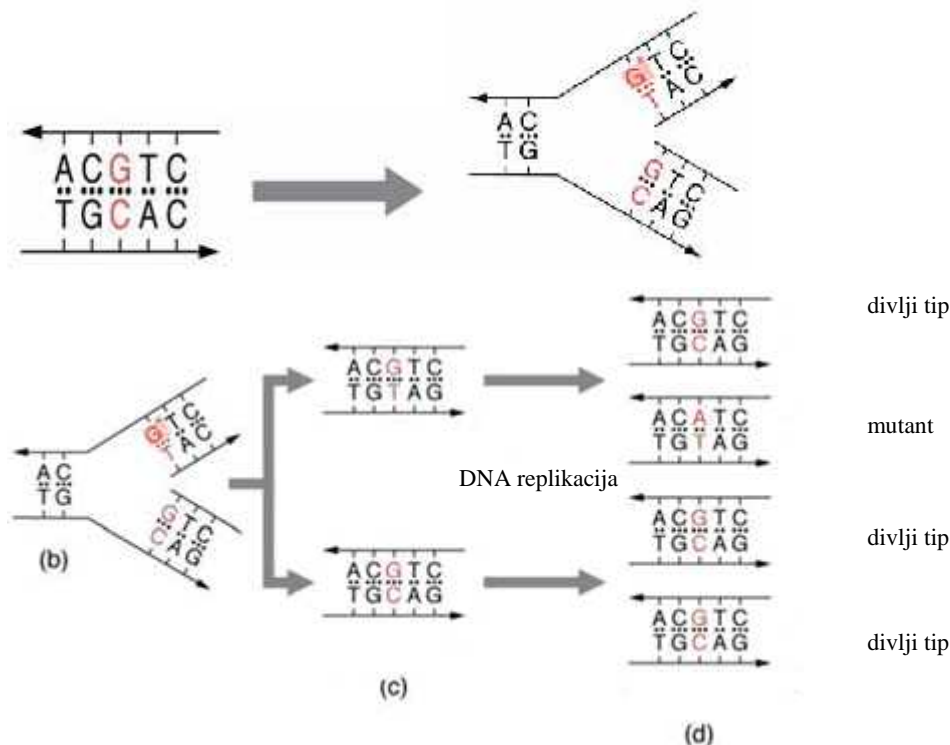


**Slika 1.** Prikaz 5 različitih kromosomskih makrolezija (<http://en.wikipedia.org/wiki/Mutations>).

### 3. To kaste mutacije

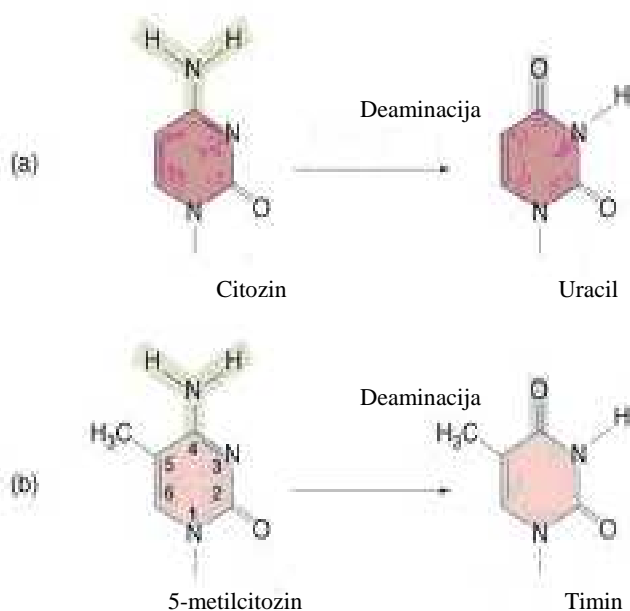
To kaste mutacije spadaju u kategoriju mikrolezija jer su to mutacijske promjene u DNA ili RNA koje obuhvaćaju supstituciju jedne baze ili para baza (<http://en.wikipedia.org/wiki/Mutations>). Baze adenin i gvanin sadrže dva prstena i nazivamo ih purinskim bazama, dok citozin i timin kao i uracil gradi samo jedan prsten i nazivamo ih pirimidinskim bazama (Alberts i sur. 1994.). Supstitucije baza dijelimo na tranzicije i transverzije. U tranziciji je purinska baza (A ili G) u baznom paru zamijenjena drugim purinom, a pirimidin (C ili T) je zamijenjen drugim pirimidinom. U tom slučaju AT par bit će zamijenjen GC parom (Slika 2) ili obrnuto CG par TA parom. U transverziji će doći do zamjene purina pirimidinom i obrnuto npr. GC par će se zamijeniti TA parom odnosno CG će postati AT par (Snyder i Champness, 2007.).

Tranzicije su općenito češće od transverzija. Do takvih promjena u parovima baza dolazi najčešće zbog pogrešaka prilikom replikacije DNA, a to se posebice događa na mjestima koja se nazivaju "vrućim mjestima" budući da su podložnija mutacijama.



**Slika 2.** G je u lancu kalupu prešao u tautomerni oblik i njemu nasuprot ugrađen je T. Ako nije došlo do popravka prije sljedeće replikacije dolazi do trajne promjene u strukturi DNA odnosno mutacije (<http://www.studentsguide.in/microbiology/microbial-genetics-mutations-genetic-recombination-in-bacteria/spontaneous-mutations.html>).

Deaminacija baza odnosno micanje jedne amino grupe sa baznog prstena tako er može uzrokovati to kaste mutacije. Citozin je posebno sklon deaminaciji i tada lako postane uracil micanjem amino grupe sa 6. položaja u citozinskom prstenu (Slika 3). Budu i da se uracil sparuje sa adeninom, a ne s timinom kao citozin, ukoliko se uracil nastao deaminacijom ne makne iz DNA, do i e do promjene CG baznog para u TA par tj. do tranzicije. Budu i da je deaminacija citozina esta pojava, organizmi su razvili posebni mehanizam za izrezivanje uracila iz DNA pomo u enzima uracil-*N*-glikozilaze. Ova deaminacija toliko je esta kod svih organizama da sve toplokrvne životinje, uklju uju i sisavce, imaju testise izvan tijela gdje je temperatura niža i time je smanjena frekvencija deaminacije, dakle mutacija (Snyder i Champness, 2007.).



**Slika 3.** Spontana deaminacija baza  
(<http://www.bio.miami.edu/dana/pix/deamination.jpg>)

To kaste mutacije koje se dogode u nekodiraju oj regiji genoma obično nemaju nikakvih posljedica, no ukoliko se mutacija dogodila u promotorskoj regiji gena, ona može imati utjecaja na njegovu ekspresiju. Ukoliko se mutacija dogodila na mjestu izrezivanja introna tako er može do i do pogrešnog izrezivanja što može imati posljedice za transkribiranu pre-mRNA molekulu ([http://en.wikipedia.org/wiki/Point\\_mutation](http://en.wikipedia.org/wiki/Point_mutation)).

To kaste mutacije su reverzibilne tj. povratne, iako se to doga a manjom učestaloš u. Reverzija može biti egzaktna ili ekvivalentna (Shema 1):

## 1. Egzaktna reverzija

AAA (Lys)	GAA (Glu)	AAA (Lys)
divlji tip	mutant	reverzija

## 2. Ekvivalentna reverzija

UCC (Ser)	UGC (Cys)	AGC (Ser)
divlji tip	mutant	reverzija

CGC (Arg, bazi na ak)	CCC (Pro, neutralna ak)	CAC (His, bazi na ak)
divlji tip	mutant	reverzija

**Shema 1.** Prikaz egzaktna i ekvivalentne reverzije to kasti mutacija.

### 3.1 Tihe mutacije ili “samesense” (istosmislene) mutacije

To su one to kaste mutacije koje se dogode u kodiraju ojoj regiji genoma, ali nemaju nikakav utjecaj na slijed aminokiselina u proteinu za koji gen kodira (Slika 4). Ponekad takva mutacija stvori istu ili vrlo sličnu aminokiselinu onoj koja bi nastala da se mutacija nije dogodila. Npr. zamjena AGG → CGG ne uzrokovati promjenu u aminokiselinskom sastavu proteina jer oba tripleta kodiraju za aminokiselinu arginin.



### 3.2 Pogrešne ili “missense” mutacije

Ovakve mutacije uzrokuju zamjenu jedne aminokiseline u polipeptidnom lancu drugom aminokiselinom (Slika 4). Te mutacije su često propusne (“leaky”) što znači da se fenotip mutacije ne ispoljava i funkcija proteina je očuvana. No takvi proteini se ipak često eksprimiraju u manjoj mjeri ili su manje stabilni nego što je slučaj kod divljeg tipa. Ovakve mutacije mogu biti:

1. Sinonimne- npr. bazi na aminokiselina se promjeni u neku drugu bazu u aminokiselinu
2. Nesinonimne- npr. bazi na aminokiselina se promjeni u kiselu aminokiselinu

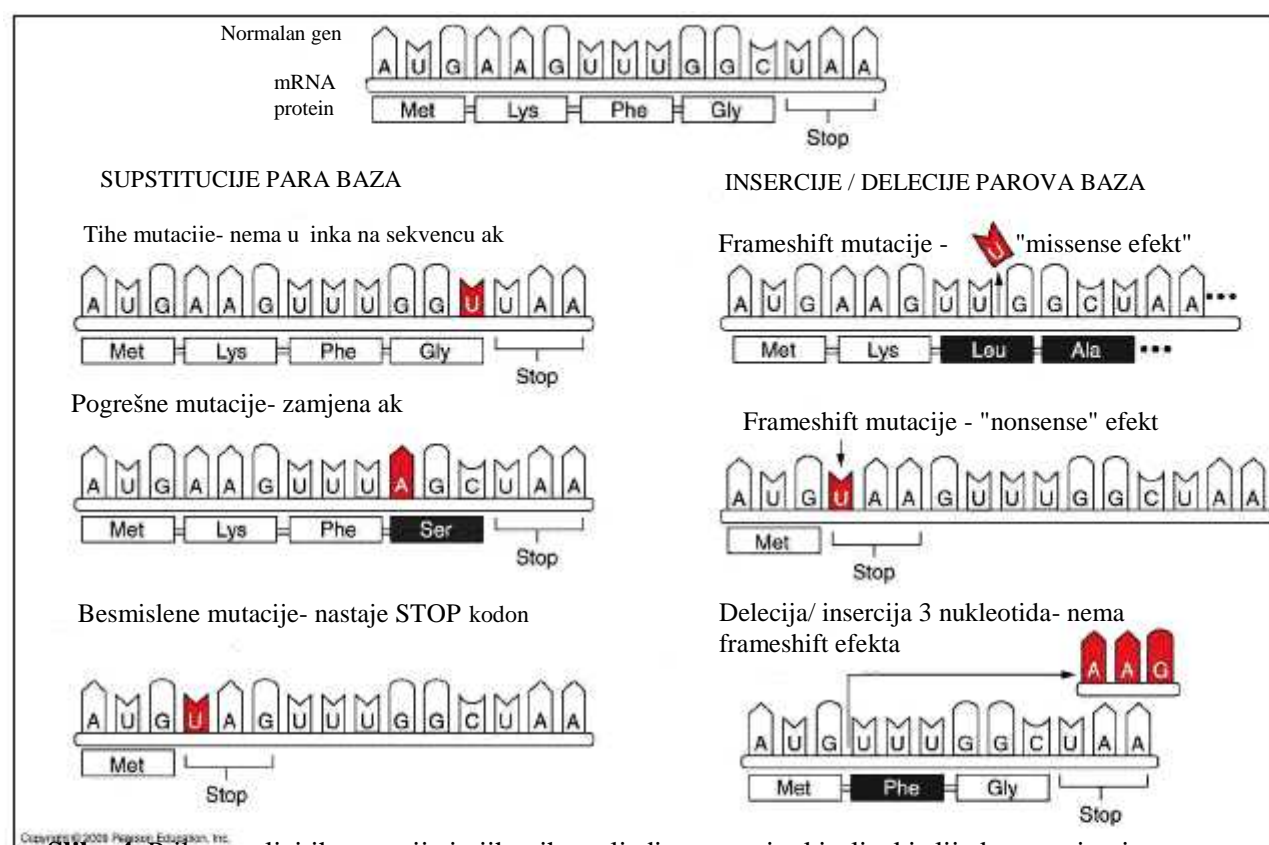
Veoma je važan i položaj aminokiseline u peptidu na kojem se dogodila mutacija. Ukoliko je mutirana aminokiselina npr. važna za aktivnost proteina onda će to imati veći utjecaj na protein nego što bi imala mutacija u nekoj drugoj manje važnoj proteinskoj domeni (Snyder i Champness, 2007.).

### 3.3 Besmislene ili “nonsense” mutacije

Ponekad umjesto da mutacijom nastane kodon za neku drugu aminokiselinu, promjenom baznih parova nastanu besmisleni kodoni UGA (“opal”), UAA (“ochre”) ili UAG (“amber”) (Slika 4). Takve mutacije nazivamo besmislenima jer ovi kodoni označavaju kraj transkripta gena i uzrokuju oslobađanje polipeptidnog lanca sa ribosoma čime se završava sinteza proteina. Ukoliko je ovakva mutacija nastupila u otvorenom okviru čitanja doći će do preuranjene terminacije translacije proteina i proteinski produkt neće biti skraćen i u većini slučajeva nefunkcionalan. Ako do ove mutacije dođe u nekodirajućoj DNA ili u regiji koja kodira za RNA takve promjene neće imati bitnije posljedice po stanicu. Ako je mutacija zahvatila mjesto izrezivanja introna u DNA to može imati negativan utjecaj na proteinsku funkciju kod eukariota. Ponekada i besmislene mutacije mogu biti propusne jer se nekada umjesto “nonsense” kodona umetne kodon za neku aminokiselinu; najpropusnija je UGA mutacija. “Nonsense” mutacije također su reverzibilne (Snyder i Champness, 2007.).

### 3.4 Pomak okvira čitanja ili "frame-shift" mutacije

"Frame-shift" mutacije su u velikom postotku zastupljene kod spontanih mutacija. Nastaju kada se određeni broj baza (manje od 3) doda ili makne iz sekvence DNA što uzrokuje pomak u okviru čitanja ako se mutacija dogodila u dijelu DNA koja kodira za polipeptide. Budući da je svaka aminokiselina kodirana tripletom parova baza koji čine jedan kodon, delecija ili insercija jedne ili više baza, može dovesti do pomaka u okviru čitanja (Slika 4). To za posljedicu može imati inaktivaciju proteina, budući da je svaka aminokiselina ugrađena nakon mutacije, kriva aminokiselina. Protein je često i kraći od normalnog jer se iza ovakvih mutacija često pojave i "nonsense" kodoni koji uzrokuju preuranjenu terminaciju translacije proteina. Ove mutacije su obično nepropusne, ali mogu revertirati. Događaju se spontano na mjestima gdje postoje kratke ponavljajuće sekvence koje proklizuju (Snyder i Champness, 2007.) tijekom replikacije zbog čega neke baze ostanu nesparene i dođe do pomaka u okviru čitanja.



**Slika 4.** Prikaz različitih mutacija i njihovih posljedica na aminokiselinski slijed u proteinu i sintezu samog protein. (<http://www.dodaj.rs/f/2H/jE/2oJI0WBo/05-mutabilnost-i-reparac.pdf>)

Bolest srpastih stanica ili anemija srpastih stanica je geneti ki poreme aj uzrokovan to kastom mutacijom u genu za globinski  $\beta$  lanac hemoglobina koji za posljedicu ima abnormalne, rigidne eritrocite srpastog oblika. Takvi eritrociti manje su elasti ni od normalnih, lakše se kidaju i stoga prijevremeno propadaju te njihov raspad osim anemije uzrokuje cijeli niz razli itih komplikacija u organizmu.

Bolest srpastih stanica se javlja u djetinjstvu i eš e zahva a negroidno stanovništvo tropskih i subtropskih podru ja (Slika 5). Razlog tome je malarija koja se tako er ve om u estaloš u javlja upravo u tim podru jima. Ove dvije bolesti imaju zanimljivu poveznicu tako što osobe heterozigoti za bolest srpastih stanica imaju ve e šanse za preživljavanjem malarije ukoliko budu zaražene. Naime, parazit malarije dio svog životnog ciklusa provodi u crvenim krvnim stanicama, no ukoliko su one srpaste, nakon ulaska parazita do i e do njihovog raspadanja i parazit se u njima ne može razmnožiti. Nosio ci jednog od alela za anemiju srpastih stanica u slu aju zaraženosti malarijom mo i e stvarati nešto srpastih stanica i stoga imati ve u šansu za preživljavanjem malarije. Drugim rije ima, heterozigoti za bolest srpastih stanica e imati bolji fitnes u odnosu na bilo koji od dva mogu a homozigota ([http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell\\_disease#Genetics](http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell_disease#Genetics)).



**Slika 5.** Zemljopisna karta podru ja u kojima je zastupljena bolest srpastih stanica. Smatra se da je mutacija koja dovodi do bolesti srpastih stanica nastala spontano na više razli itih geografskih podru ja ([http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell\\_disease#Genetics](http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell_disease#Genetics)).

#### 4.1. Genetika bolesti srpastih stanica

Uzrok bolesti srpastih stanica je jedna to kasta mutacija u  $\beta$ - globinskom genu koji kodira  $\beta$  globinski lanac hemoglobina (Hb). Naj češći tip Hb kod ljudi je hemoglobin A građen od dva  $\alpha$  i dva  $\beta$  lanca. Alel odgovoran za ovu anemiju nalazi se na kraćem kraku kromosoma 11 i producira hemoglobin srpastih stanica ( $Hb^S$ ). Zamjena jednog nukleotida (A  $\rightarrow$  T) uzrokuje zamjenu hidrofilne glutaminske kiseline hidrofobnim valinom na položaju 6, odnosno zamjenu GAG kodona u GTG kodon prilikom translacije proteina. Ovakva mutacija je u normalnim uvjetima bezazlena i ne utječe bitnije na sekundarnu, tercijarnu ili kvarternu strukturu Hb ([http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell\\_disease#Genetics](http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell_disease#Genetics)). No, primjerice u uvjetima niske koncentracije kisika, ova mutacija uzrokuje polimerizaciju lanaca  $Hb^S$  što za posljedicu prvenstveno ima nastanak abnormalnih eritrocita, a to uzrokuje brojne ozbiljne poteškoće za organizam.

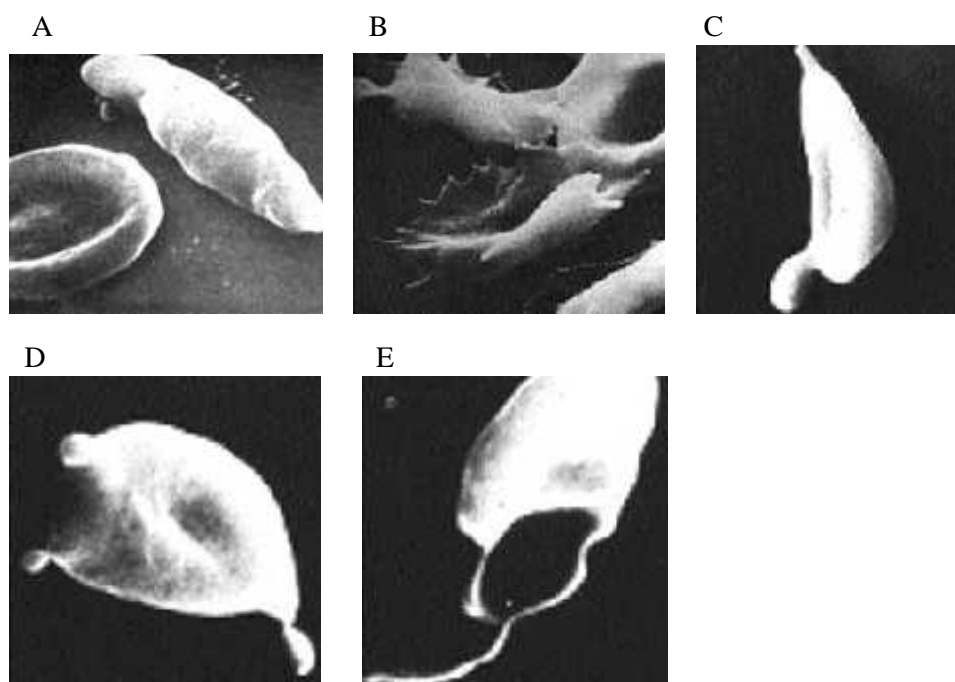
Heterozigoti za ovu bolest rijetko pokazuju simptome jer normalni alel stvara preko 50% normalnog Hb. Kod homozigota za ovu bolest, do polimerizacije  $Hb^S$  će doći samo u određenim uvjetima. To se može dogoditi npr. u uvjetima nedostatka kisika na višim nadmorskim visinama, jake dehidracije organizma, acidoze ili pojačane fizičke aktivnosti ([http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell\\_disease#Genetics](http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell_disease#Genetics)).

Ova bolest je ujedno prva smrtonosna bolest kod ljudi za koju je otkriveno da je uzrokovana točnom mutacijom na nekom genu.

## 4.2. Patofiziologija bolesti srpastih stanica

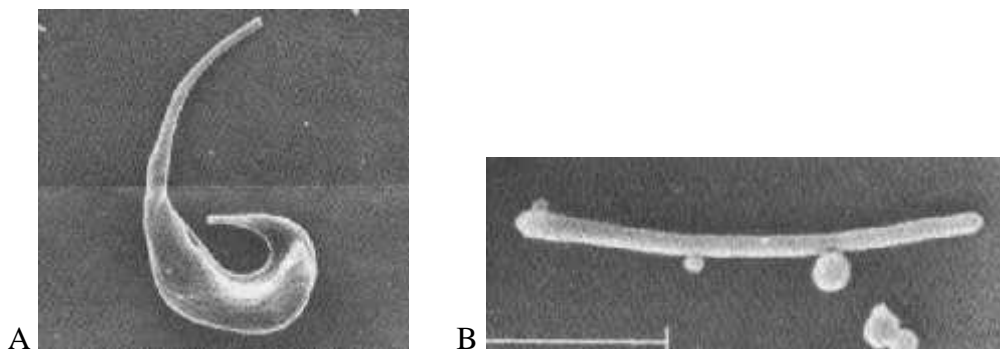
Kada se hemoglobin iz srpastih stanica deoksigenira, zamjena  $\beta_6$  glutaminske kiseline valinom, uzrokuje hidrofobnu interakciju jedne molekule  $Hb^S$  sa drugom molekulom  $Hb^S$ . Jedna od dvije  $\beta$  podjedinice stvara hidrofobne interakcije sa akceptorskom  $\beta$  podjedinicom drugog  $\beta$  lanca (<http://www.kidneyatlas.org/book4/adk4-04.pdf>). Naime, nedostatak polarne glutaminske aminokiseline na šestom mjestu u  $Hb^S$ , u uvjetima niske koncentracije kisika, primjerice na visokim nadmorskim visinama, uzrokovati će spontanu, nekovalentnu polimerizaciju  $Hb^S$  lanaca. To uzrokuje promjenu oblika eritrocita i znatno smanjuje njihovu elastičnost ([http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell\\_disease#Genetics](http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell_disease#Genetics)). Polimerizacija  $Hb^S$  je jedan od prvih događaja u molekularnoj patogenezi bolesti srpastih stanica. Crvene krvne stanice mogu imati različite oblike, ovisno o tome gdje se u stanici dogodila polimerizacija

lanaca, eritrociti postaju rigidniji te lakše pucaju prolaskom kroz kapilare (Slika 6) (<http://www.kidneyatlas.org/book4/adk4-04.pdf>). To uzrokuje za epljenje krvnih žila što pak dovodi do ishemije koja može uzrokovati nekrozu tkiva.



**Slika 6.** Prikaz crvenih krvnih stanica. A, Normalni eritrocit. B - E, različiti oblici eritrocita sa srpastom anemijom (<http://www.kidneyatlas.org/book4/adk4-04.pdf>).

Srpasti eritrociti imaju drugačiju organizaciju fosfolipidnog dvosloja membrane. Membrane ovih eritrocita su razorene zbog unutarstaničnog nakupljanja polimera što rezultira nastankom spikula (Slika 7). Proteini skeleta se više ne mogu vezati za membranu eritrocita što uzrokuje pojačanu izmjenu lipida između unutrašnje i vanjske membrane, procesom koji je poznat pod nazivom “flip-flop” (Franck i sur. 1985). Abnormalni skelet membrane je uzrok intenzivnih flip-flop procesa. Nastanak spikula tako uzrokuje promjenu u kemijskoj strukturi što povećava vjerojatnost nakupljanja i koagulacije eritrocita zahvaćenih ovom bolešću (predtrombinsko stanje) (<http://www.kidneyatlas.org/book4/adk4-04.pdf>).



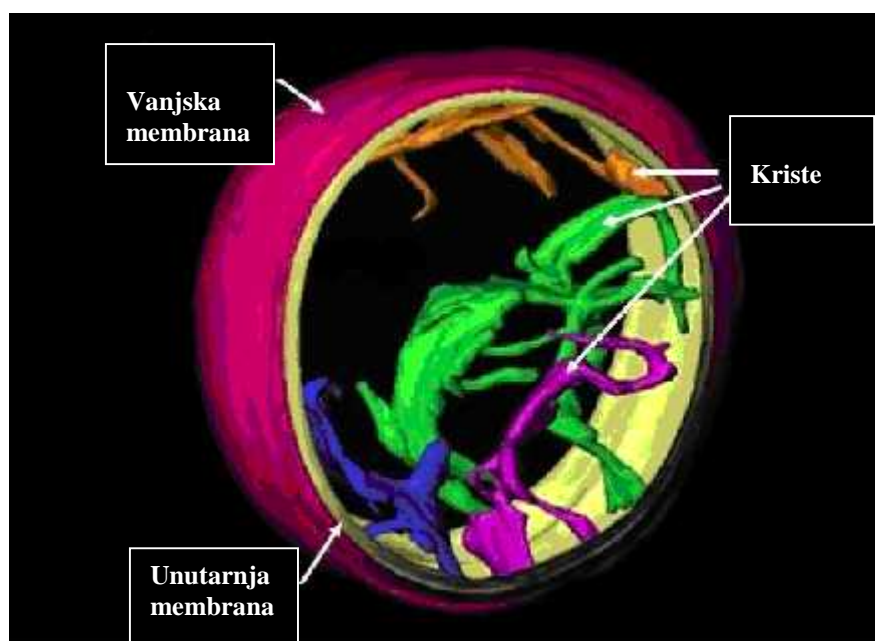
**Slika 7.** A, deoksigenirani nativni eritrocit kod srpaste anemije. B, spikule izolirane iz srpastog eritrocita (<http://www.kidneyatlas.org/book4/adk4-04.pdf>).

Iako vlada pretpostavka kako oboljeli od ove bolesti rijetko dožive odraslu dob, 1980-ih je provedeno istraživanje u SAD-u koje je pokazalo da je za muškarce srednja dob preživljenja 42 godine, a za žene 48 godina. Primjetno je da oboljeli koji u krvi imaju veće koncentracije fetalnog Hb imaju veći šansu da duže počive. Također je ustanovljeno da ukoliko su bolesnici kao djeca imali niske koncentracije fetalnog Hb u krvi imaju veći rizik od ranije smrti u odrasloj dobi. Taj podatak je važan jer se kod djece sa dijagnosticiranom bolešću u ranom djetinjstvu može odmah po etički sa poticanjem stvaranja fetalnog Hb lijekovima (Platt i sur. 1994.) ili ih se može uputiti na transplantaciju koštane srži. Pokazalo se da kod djece koja imaju dijagnosticiranu bolest srpastih stanica, transplantacija koštane srži ima pozitivan efekt, ali isti zahvat ne pomaže bolesnicima u odrasloj dobi ([http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell\\_disease#Genetics](http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell_disease#Genetics)).

## 5. Mitohondrijska DNA i bolesti

Mitohondriji su stanični semiautonomni organeli koji sadrže vlastitu DNA, vlastitu RNA i vlastite ribosome što im omogućuje da se repliciraju samostalno, neovisno od replikacije jezgrine DNA, te samostalno sintetiziraju neke od proteina. Smatra se da su mitohondriji porijeklom prokariotske proteobakterije koje su procesom endosimbioze ušle u prete u današnje eukariotske stanice i postali njeni endosimbionti. Brojni dokazi potvrđuju ovu teoriju, a jedan od najvažnijih je postojanje vlastite mitohondrijske DNA unutar eukariotske stanice ([http://en.wikipedia.org/wiki/Endosymbiotic\\_theory](http://en.wikipedia.org/wiki/Endosymbiotic_theory)).

Mitohondrijska DNA ima ukupno 37 gena: 22 tRNA, 2 rRNA i 13 peptidnih gena (<http://en.wikipedia.org/wiki/Mitochondrion#Structure>). Mitohondriji unato posjedovanju vlastitog geneti kog materijala ipak u odre enoj mjeri ovise o jezgrinoj DNA jer nisu sposobni sami sintetizirati sve proteine koji su im potrebni. Ovi organeli su obavijeni dvostrukom membranom i unutrašnja membrana je jako naborana te tvori nabore ili kriste. Na njima se odvija glavna procesa oksidativne fosforilacije kojom mitohondriji stvaraju zalihe stani nog ATP-a (Slika 8).



**Slika 8.** Ilustracija popre nog prereza mitohondrija. Vidljiv je odnos površine dviju membrana i površine krista na kojima se odvija proces oksidativne fosforilacije (<http://en.wikipedia.org/wiki/File:MitochondrionCAM.jpg>).

Mitohondrijski poreme aji uglavnom poga aju tkiva koja imaju pove ane potrebe za ATP-om, poput mozga i miši a. Ve ina takvih poreme aja se ne može uspješno lije iti i smrtonosni su za oboljelu osobu (Bigger i sur., 1999.).

Mitohondrijske encefalomiopatije su raznovrsne skupine poreme aja uzrokovane strukturnim, biokemijskim ili geneti kim promjenama u mitohondrijima. Disfunkcije u ovim organelima mogu zahvatiti gotovo sve organske sustave, a neke od karakteristika njihove DNA zaslužne su za povezivanje ovih organela i razli itih bolesti (Johns, 1995.).

Neke od karakteristika mitohondrijske DNA (mtDNA) su da mutira 10 puta eš e od jezgrine DNA, mtDNA ne sadrži prave intronske sekvence kakve nalazimo u jezgri

eukariotskih stanica, te se nasumične mutacije velikom većinom događaju u genima koji kodiraju proteine. Osim tih karakteristika, značajno je i da mtDNA nema histona koji bi je štitali, kao ni mehanizam popravka DNA. Istovremeno je puno podložnija mutacijama zbog oksidativnog uinka slobodnih radikala koji se oslobađaju u mitohondrijima u procesu oksidativne fosforilacije (Johns, 1995.). Zbog svega toga mitohondrijska DNA evoluira oko 10 puta brže od jezgrine DNA.

Mitohondrijska DNA se nasljeđuje samo preko majčinske linije te u njoj ne dolazi do rekombinacije. Svaki mitohondrij sadrži dvije do deset molekula DNA, te svaka stanica sadrži veću ili manju količinu mitohondrija, stoga mutirana mtDNA i normalna mtDNA koegzistiraju u stanici. Ovakvo stanje naziva se heteroplazmija i omogućuje da se čak i letalna mutacija održi u stanici. Homoplazmija je pojava kada stanica sadrži ili potpuno normalnu ili potpuno mutiranu mtDNA (Johns, 1995.).

Procesima replikativne segregacije dolazi do različitog omjera raspodjele mutirane i normalne mtDNA u mitohondrijima, ovisno kako se mtDNA preraspodjeli u stanice kćeri. Količina mutirane mtDNA potrebna za pojavu mutantnog fenotipa varira od osobe do osobe i ovisi o samim organskim sustavima i tkivima pojedinca.

Mitohondrijske fenotipove koji predstavljaju različite vrste bolesti mogu uzrokovati već i rearanžmani u mtDNA (delecije, duplikacije i sl.), ali i točke mutacije ukoliko se dogode u dijelovima gena važnim za aktivnost proteina. Danas je poznato 118 točaka mutacija u mtDNA koje uzrokuju različite bolesti (Martin-Kleiner i sur. 2006.).

Mutacije koje mogu prouzročiti letalno oštećenje u procesu oksidativne fosforilacije su vijabilne samo ako su heteroplazmatske. No već i blažih, "missense" mutacija u genima koji kodiraju za proteine, su homoplazmatske mutacije. Također je pronađeno da mutacije gena za tRNA prevladavaju u slučajevima mitohondrijske encefalomiopatije, dok primjerice, u slučaju Leberove nasljedne optičke neuroretinopatije, prevladavaju mutacije u genima koji kodiraju za proteine (Johns, 1995.).



## 5.1. Leberova nasljedna optička neuropatija (LHON)

Leberova nasljedna optička neuropatija prva je bolest dijagnosticirana u ljudi koja je povezana sa nasljednom točnom mutacijom u mtDNA koja se nasljeđuje po majčinskoj liniji. LHON je primjer homoplazmatske “missense” mutacije koja je češća u muškarce nego žene i javlja se u drugom ili trećem desetljeću života (Johns, 1995.). Danas je poznato da je LHON povezan sa preko 30 različitih točnih mutacija u mtDNA od kojih su tri najčešće G3460A, G11778A i T14484C. Ove mutacije uzrokuju defekte u podjedinicama kompleksa I (NADH-dehidrogenaza-ubikvinon-reduktaza) u mitohondrijima. G11778A točna mutacija u mtDNA se manifestira kao ozbiljni gubitak vida. LHON prvo uzrokuje gubitak vida tijekom nekoliko tjedana na jednoj oku, te tijekom sljedećih mjesec do dva i na drugoj oku. Gubitak vida je obično jedina klinička značajka ove bolesti (Martin-Kleiner i sur. 2006.).

U radu u kojem su istraživane dvije hrvatske obitelji, dijagnosticirana je točna mutacija u mtDNA, LHON G11778A, kod tri mlada muškarca. Pokazalo se da su majke i žene koje su bile u srodstvu sa ova tri LHON pacijenta, nosioci LHON G11778A mutacije u mtDNA, ali one nisu imale nikakvih problema sa vidom niti su bolovale od drugih bolesti. Istraživanje je također pokazalo da se bolest javlja u mlađim muškaracima. Međutim daljnjim istraživanjem 13 pacijenata, iz triju obitelji, oboljelih od optičke neuropatije, ove tri najčešće mtDNA mutacije nisu pronađene. Autori to objašnjavaju velikim brojem mutacija koje uzrokuju LHON te ističu kako nije dovoljno dijagnosticirati LHON samo na temelju kliničkih testova već je nužno napraviti i genetičku analizu i utvrditi postoje li točne mutacije u mtDNA. Budući da za ovu bolest još nema lijeka, važno je genetički savjetovati obitelji koje imaju dijagnosticiran LHON kada planiraju potomstvo. Pri tome je važno znati da žene koje su nosioci mutacije u mtDNA neće oboljeti od ove bolesti (Martin-Kleiner i sur. 2006.).

## 5.2. MELAS sindrom

MELAS sindrom (mitohondrijska encefalopatija s laktoacidozom i ishemijskim napadima) je progresivni, neurodegenerativni poremećaj. To je multisistemska bolest koja zahvaća centralni živčani sustav, skeletne mišiće, srčani mišić, oči te u rjeđim slučajevima i bubrege (<http://www.plivamed.net/?section=home&cat=t&id=24647&show=1>).

Uzrok MELAS sindroma su mutacije u mitohondrijskoj DNA i on se nasljeđuje isključivo majčinskom linijom, no zabilježeni su i slučajevi nastanka novih mutacija u mtDNA i pojave ovog sindroma kod bolesnika koji nemaju nikakvih nasljednih predispozicija za oboljevanje ([http://en.wikipedia.org/wiki/MELAS\\_syndrome](http://en.wikipedia.org/wiki/MELAS_syndrome)).

Glavni pokazatelj bolesti je pojava hemipareze tj. nemogućnosti voljne mišiće ne kontrakcije jedne polovice tijela ([http://www.plivazdravlje.hr/medicinskileksikon/5576/Hemipareza?plivahealth\[term\]=5576](http://www.plivazdravlje.hr/medicinskileksikon/5576/Hemipareza?plivahealth[term]=5576)) kao i pojava hemianopsije odnosno gubitka polovice vidnog polja ([http://hr.wikipedia.org/wiki/Oftalmolo%C5%A1ki\\_pregled](http://hr.wikipedia.org/wiki/Oftalmolo%C5%A1ki_pregled)).

U skup poremećaja koji su povezani s ovim sindromom spadaju još i hipertenzija, miopatija, hipotonija ili smanjenje mišićnog tonusa, u mišićima se nakuplja mliječna kiselina što uzrokuje zakiseljavanje krvi što pak dovodi do povraćanja, abdominalne boli i zamora mišića (Slika 9). Kod oko 25% pacijenata javlja se gluhoća, zatim različiti poremećaji s kožom, nizak rast kao jedna od prvih manifestacija ovog sindroma te napadaji koji su popraćeni konvulzijama, migrenoznim glavoboljama, poremećajem vida itd. (<http://emedicine.medscape.com/article/946864-overview>).

Bolesnici imaju napadaje slične moždanom udaru koji uzrokuju subakutne disfunkcije mozga, promjene u cerebralnoj strukturi i neke dodatne abnormalnosti (Johns, 1995.). Ovaj progresivni poremećaj općenito ima veliku stopu smrtnosti, javlja se podjednako kod oba spola i to između 4. i 15.-te godine života (<http://emedicine.medscape.com/article/946864-overview>).

### 5.2.1. Genetika i patofiziologija MELAS sindroma

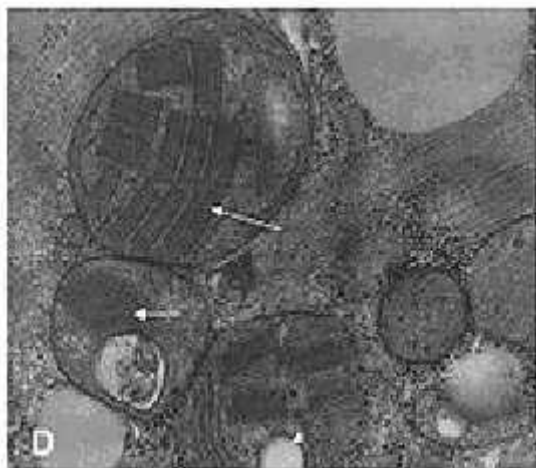
Približno 80% pacijenata sa kliničkim karakteristikama MELAS sindroma imaju heteroplazmatsku A → G točastu mutaciju u ovom i dihidrouridina gena za transfer RNA; (*tRNA*)<sup>Leu (UUR)</sup> na baznom paru 3243. No osim ove, postoji još zabilježenih točastih mutacija na istome mitohondrijskom genu: 3244 G → A, m.3258 T → C, m.3271 T → C, i m.3291 T → C. Ove mutacije su heteroplazmatske što ukazuje na prisutnost mutirane mtDNA u različitim postocima u različitim tkivima. Varijabilna heteroplazija, kod pojedinaca zahvaćenih MELAS sindromom, posljedica je razlika u segregaciji u jajnoj stanici. Mutacije u mitohondrijskom genu za *tRNA*<sup>Leu (UUR)</sup>, kod MELAS sindroma, uzrokuju defekt u procesu aminoaciliranja i u pratećoj inicijaciji translacije (<http://emedicine.medscape.com/article/946864-overview>).

Neki od mutiranih gena u MELAS sindromu (*MT-ND1*, *MT-ND5*) kodiraju za NADH dehidrogenazu, veliki enzimski kompleks koji služi pretvorbi kisika i jednostavnih šećera u energiju u mitohondrijima, a naziva se još i kompleks I ([http://en.wikipedia.org/wiki/MELAS\\_syndrome](http://en.wikipedia.org/wiki/MELAS_syndrome)).

Uzroci napadaja koje bolesnici s ovim sindromom doživljavaju nisu još potpuno razjašnjeni, no smatra se da je za njih odgovorna kratkotrajna disfunkcija u oksidativnoj fosforilaciji u parenhimu mozga (<http://emedicine.medscape.com/article/946864-overview>).

Mutacije u ostalim genima (*MT-TH*, *MT-TL1* i *MT-TV*) povezanih s ovim poremećajem utječu na funkciju mitohondrijske tRNA odnosno njenu sintezu. Te mutacije stoga remete sveukupnu sintezu mitohondrijskih proteina. Znanstvenici još nisu otkrili kako promjene u mtDNA dovode do simptoma MELAS-a, ali provode se intenzivna istraživanja mutacija u mitohondrijskim genima, osobito na tkivu mozga ([http://en.wikipedia.org/wiki/MELAS\\_syndrome](http://en.wikipedia.org/wiki/MELAS_syndrome)).

Mjerenjem aktivnosti respiratornih enzima kod osoba koje pate od ovog sindroma, ustanovljeno je da više od polovica pacijenata ima defekt u kompleksu I ili kompleksu I + IV. Pronađena je i poveznica između MELAS sindroma i deficijencije u kompleksu I. Naime, primjećena je smanjena aktivnost respiratornog lanca, a uzrok tome je smanjena sinteza proteina i smanjena translacija UUG-bogatih gena koji kodiraju za ND6 podjedinicu kompleksa I (<http://emedicine.medscape.com/article/946864-overview>).



**Slika 9.** Elektronsko mikroskopska slika mišićne stanice mitohondrija kod oboljelog od MELAS sindroma, ali bez detektirane mutacije. Vide se abnormalne nakupine mitohondrija sa inkluzijama (velika strelica) i mitohondrijskim vakuolama (mala strelica) ([http://en.wikipedia.org/wiki/MELAS\\_syndrome](http://en.wikipedia.org/wiki/MELAS_syndrome)).

## 6. Detekcija točkastih mutacija

Brojna istraživanja provedena proteklih desetljeća s ciljem otkrivanja uzroka brojnim ljudskim nasljednim bolestima rezultirala su otkrićem točkastih mutacija kao glavnih uzroka mnogih bolesti. Danas se velika važnost pridaje otkrivanju metoda kojima bi se što jednostavnije detektiralo ovakve promjene u DNA strukturi. Između ostalog razvijaju se i brojne metode detekcije točkastih mutacija i DNA polimorfizama pomoću PCR reakcije. PCR reakcija je brza metoda za detekciju promjena u parovima baza DNA, a temelji se na tome da se specifične regije genomske DNA mogu označiti i simultano amplificirati upotrebom označenih supstrata u PCR reakciji, kao i da jednolančane (jL) DNA molekule pokazuju različitu elektroforetsku mobilnost u nadenaturirajućem poliakrilamidnom gelu. Do razlika u elektroforetskoj mobilnosti jL DNA dolazi zahvaljujući ne samo razlici u veličini između tih molekula već i zbog razlika u sastavu njihovih baza. Istraživanja su pokazala da se ovom metodom mogu zamjetiti razlike u mobilnosti DNA zahvaljujući promjeni u jednom paru baza na fragmentima DNA veličine do 200 pb (Orita i sur. 1989.).

Metoda DNA hibridizacije omogućuje, primjerice sintezom sintetskih oligonukleotida (19 pb) komplementarnih normalnim i mutiranim genskim slijedovima za primjerice  $\beta$ -globinski lanac hemoglobina, pretraživanje slijedova baza u DNA i detektiranje mutacija u ovim genima. Probe za mutiranu i normalnu DNA je moguće razlikovati specifičnim metodama hibridizacije. Heterozigoti za ovu bolest sa jednim mutiranim i jednim normalnim alelom vezati će tako primjerice obje probe, dok homozigoti bilo za mutantni fenotip bilo za normalnu DNA, vežu samo jednu vrstu oligonukleotida. Ovakve metode alelno specifične hibridizacije oligonukleotida pogodne su za detekciju bilo koje to kaste mutacije koja izaziva neku genetičku bolest, a javlja se na genu koji postoji u samo jednoj kopiji unutar organizma (Conner i sur., 1983.).

## 7. Zaključak

To kaste mutacije nastaju supstitucijom jedne baze ili jednog baznog para u molekuli DNA i često uzrokuju promjene u genskoj strukturi koje bitno utječu na proteinsku funkciju. Ovakve mutacije mogu nastajati spontano tijekom replikacije molekule DNA ili biti inducirane različitim kemijskim agensima ili okolišnim uvjetima. Mutacije ne moraju nužno biti štetne po organizam, primjerice, one su jedno od glavnih oruđa evolucije i bez njih, raznolikost života kakav danas postoji, vjerojatno ne bi bila posve moguća. Tako je vidljivo i na primjeru bolesti srpaste anemije da mutacije ne moraju nužno imati negativan utjecaj jer heterozigoti koji nose jedan mutirani i jedan normalni alel za  $\beta$ -globinski lanac hemoglobina, imaju bolju šansu za preživljavanjem malarije.

No, mutacije su nažalost često i uzrok teških oboljenja kod ljudi. Za brojne nasljedne bolesti još nije utvrđeno kako nastaju i tome se treba posvetiti još mnogo istraživanja kako bi se što ranije dijagnosticirale i uspješnije liječile. U slučaju MELAS sindroma, primjerice, detektirano je nekoliko to kasti mutacija mtDNA povezanih s njegovim nastankom, ali zbog same prirode mutacija koje nastaju u mtDNA kao i zbog neovisne diobe mitohondrija te neovisnog nasumičnog nasljeđivanja istih u stanicama kćerima, teško je odrediti u kojem tkivu i pod kojim uvjetima će doći do nastanka bolesti. Stoga je preporučljivo detaljnije istraživanje mtDNA odnosno razvijanje dodatnih metoda kojima bi se mutacije u mtDNA mogle što

preciznije detektirati. Primjerice, metode u kojima se primjenjuju sintetski oligonukleotidi koji su komplementarni DNA kalupima i mogu pronaći to kaste mutacije zahvaljujući i specifičnim metodama hibridizacije pokazuju dobre rezultate u detekciji to kasti mutacija na molekuli hemoglobina.

Budući da su zbog grane mtDNA svi proteini koji u mitohondrijima nastaju, puno podložniji riziku da pretrpe mutaciju od proteina kodiranih jezgrinim genomom, gdje je ipak manja vjerojatnost da se svaka nastala mutacija zahvati dio kodirajuće DNA, smatram da bi se više istraživanja trebalo posvetiti otkrivanju lijekova kojima bi se mogao nadomjestiti rad eventualno defektnih proteina koji su kodirani mitohondrijskim genomom. Najvažniji proces koji se u mitohondrijima odvija je svakako oksidativna fosforilacija kojom stanice dobivaju prijeko potrebnu energiju za svoj rad. Ukoliko zbog mutacija neki od proteina koji grade proteinske komplekse koji sudjeluju u ovome procesu nije funkcionalan, cijela stanica trpi. Zbog toga smatram kako bi trebalo raditi na razvijanju metoda genske terapije i mogućnostima koje, u ovakvim slučajevima, ona može pružiti. Mitohondriji predstavljaju problem za ovakav tip terapije jer dvostruka membrana kojom su obavijeni otežava unos proteina i genetičkog materijala u sam organel, no postoje i načini kojima se može smanjiti replikacija ili transkripcija mutirane mtDNA. U svakom slučaju, daljnje otkrivanje mutacija kao i otkrivanje metoda kojima se one mogu suzbiti ili barem smanjiti njihove posljedice po organizam, predstavlja veliki izazov za istraživače i znanost, samim time što nove mutacije nastaju svakodnevno i genomi nikada ne prestaju evoluirati.

## 7. Literatura

- Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J.D. 1994. Molecular Biology of the Cell, 4th ed., Garland Science, New York, pp. 235-255.
- Bigger B., Collombet J.-M., Coutelle C., 1999. Tipping the scales in favour of mitochondrial gene therapy. *Gene Therapy* **12**, 1909-1910.
- Conner B.J., Reyes A.A., Morin C., Itakura K., Teplitz R.L., Wallace R.B., 1983. Detection of sickle cell BS-globin allele by hybridization with synthetic oligonucleotides, *Proc. NatL Acad. Sci. USA*, **80**, 278-282.
- Franck P.F., Bevers E.M., Lubin B.H., Comfurius P., Chiu D.T., Op den Kamp J.A., Zwaal R.F., van Deenen L.L., Roelofsen B., 1985. Uncoupling of the membrane skeleton from the lipid bilayer: the cause of accelerated phospholipid flip-flop leading to an enhanced procoagulant activity of sickled cells. *J Clin Invest* **75**, 183–190.
- Johns D.R., 1995. Mitochondrial DNA and disease, review article. *The New England journal of medicine; Seminars in medicine of The Beth Israel Hospital, Boston* **10**, 638-644.
- Martin-Kleiner I., Gabrilovac J., Bradvica M., Vidovi T., Cerovski B., Fumi K., Borani M., 2006. Leber's Hereditary Optic Neuroretinopathy (LHON) Associated with Mitochondrial DNA Point Mutation G11778A in Two Croatian Families. *Coll. Antropol.* **30**, 171–174.
- Orita M., Suzuki Y., Sekiya T., Hayashi K., 1989. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. *Genomics* **5**, 874-879.

Platt O. S., Brambilla D.J., Rosse W.F., Milner P.F., Castro O., Steinberg M.H., Klug P. P., 1994. Mortality In Sickle Cell Disease - Life Expectancy and Risk Factors for Early Death. *The New England Journal of Medicine* **23**, 1639-1644.

Snyder L., Champness W., 2007. Molecular genetics of bacteria 3rd ed., ASM Press, Washington D.C., pp.140-163.

Stearns S.C., Hoekstra R.F., 2005. Evolution: an introduction, 2nd ed., Oxford University Press, pp. 325-329.

<http://emedicine.medscape.com/article/946864-overview>

[http://en.wikipedia.org/wiki/Endosymbiotic\\_theory](http://en.wikipedia.org/wiki/Endosymbiotic_theory)

<http://en.wikipedia.org/wiki/File:MitochondrionCAM.jpg>

[http://en.wikipedia.org/wiki/MELAS\\_syndrome](http://en.wikipedia.org/wiki/MELAS_syndrome)

<http://en.wikipedia.org/wiki/Mitochondrion#Structure> <http://en.wikipedia.org/wiki/Mutations>

[http://en.wikipedia.org/wiki/Point\\_mutation](http://en.wikipedia.org/wiki/Point_mutation)

[http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell\\_disease#Genetics](http://en.wikipedia.org/wiki/Sickle-cell_disease#Genetics)

<http://www.bio.miami.edu/dana/pix/deamination.jpg>

<http://www.dodaj.rs/f/2H/jE/2oJI0WBo/05-mutabilnost-i-reparac.pdf>

<http://www.kidneyatlas.org/book4/adk4-04.pdf>

<http://www.plivamed.net/?section=home&cat=t&id=24647&show=1>

[http://www.plivazdravlje.hr/medicinskileksikon/5576/Hemipareza?plivahealth\[term\]=5576](http://www.plivazdravlje.hr/medicinskileksikon/5576/Hemipareza?plivahealth[term]=5576)

<http://www.studentsguide.in/microbiology/microbial-genetics-mutations-genetic-recombination-in-bacteria/spontaneous-mutations.html>



## 9. Sažetak

Mutacije su nasljedne i trajne promjene u strukturi DNA molekule. Mutacije nastaju spontanim greškama tijekom replikacije DNA ili mogu biti inducirane nekim mutagenim agensima. To kaste mutacije su mutacije koje nastaju supstitucijom jedne baze ili jednog baznog para drugim baznim parom i uzrok su brojnim bolestima. Prva bolest za koju je otkriveno da ju uzrokuje jedna to kasta mutacija je bila anemija srpastih stanica. Ova bolest uzrokovana je jednom to kastom mutacijom u  $\beta$  globinskom lancu hemoglobina što za posljedicu ima abnormalne, rigidne eritrocite. To ima ozbiljne i često smrtonosne posljedice za bolesnika. No pojava ove mutacije u subtropskim i tropskim područjima dala je evolucijsku prednost osobama koje ju nose. Naime heterozigoti za ovu mutaciju imaju selekcijsku prednost budući da ne oboljevaju od malarije koja je česta upravo u tim područjima.

To kaste mutacije koje zahvaćaju mitohondrijsku DNA nasljeđuju se samo majčinskom linijom i uglavnom zahvaćaju kodirajuću DNA budući da mitohondriji ne sadrže introne kakvi su prisutni u genomu jezgre eukariota. MELAS sindrom i Leberova nasljedna optička neuropatija su primjeri bolesti uzrokovanih to kastim mutacijama u mtDNA. MELAS sindrom je teška i smrtonosna bolest uzrokovana defektnim proteinima koji grade kompleks I u mitohondriju i posebice pogađa tkiva poput mozga i mišića koja najviše ovise o staničnom ATP-u nastalom procesom oksidativne fosforilacije u mitohondrijima. Leberova nasljedna optička neuropatija za posljedicu ima potpuni gubitak vida kod vrlo mladih osoba.

Veliki izazov za istraživače danas predstavlja otkrivanje novih metoda za detekciju to kastih mutacija, kao i različitih metoda njihovog liječenja odnosno smanjivanja negativnog utinka po stanicu i organizam primjerice pomoću genske terapije.

## 9. Summary

Mutations are hereditary and permanent changes in DNA structure. Mutations can occur spontaneously during DNA replication or they can be induced by mutagenic agents. Point mutations are a type of mutation that causes the replacement of a single base nucleotide with another nucleotide in DNA and they are responsible for many diseases. Sickle cell anemia was the first disease known to be caused by one point mutation. The cause of this disease is one point mutation in  $\beta$  globin chain of hemoglobin which leads to formation of abnormal erythrocytes and that often includes severe and lethal consequences for the patient. Occurrence of this mutation in tropic and subtropic areas, where malaria is also very common, made persons who were heterozygous for sickle cell anemia better adapted because this way they had much greater chance of surviving malaria.

Point mutations that occur in mitochondrial DNA (mtDNA) are inherited only by mother line and since mitochondrion does not have introns similar to those in nuclear genome of eucaryotes, these mutations usually affect coding region of mtDNA. Examples of such diseases are MELAS syndrome and Leber's hereditary optic neuropathy. MELAS syndrome is a severe and lethal disease caused by defect in proteins that build complex I in mitochondrion. It specially affects brain and muscle tissue which mostly depend on cell's ATP produced during the process of oxidative phosphorylation in mitochondrion. Leber's hereditary optic neuropathy causes complete loss of vision and it affects very young persons.

Today researchers aim to find new methods for point mutations detection. They are also trying to discover various other methods of point mutations treatment like gene therapy. These methods help reduce negative effects of mutations on cells and organisms.